

УДК 576.893.19 : 598.8

© 1994

**ОСОБЕННОСТИ ГАМЕТОГЕНЕЗА, ФОРМИРОВАНИЯ ЗИГОТЫ И  
ООКИНЕТЫ У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ГЕМОПРОТЕИД  
(НАМОСПОРИДИА: НАЕМОПРОТЕИДАЕ) ПТИЦ IN VITRO**

**Г. А. Валькюнас, Т. А. Ежова**

Проведено сравнительное изучение гаметогенеза, формирования зиготы и оокинеты у *Haemoproteus balmorali*, *H. dolniki*, *H. fringillae*, *H. majoris* на светооптическом уровне in vitro. Выявлены признаки, которые могут быть использованы при определении этих одноклеточных животных. Проиллюстрирована возможность составления определительных таблиц видов гемопротейд с привлечением сведений по развитию паразитов in vitro.

Проведенное ранее сравнительное исследование гаметогенеза, формирования зиготы и оокинеты у гемопротейд (Haemoproteidae) птиц в стандартных условиях in vitro (Валькюнас, Ежова, 1993) позволило выявить ряд хороших признаков, которые могут быть использованы в систематике. Среди этих признаков прежде всего следует отметить длину микрогамет, строение зигот, морфологические особенности трансформации зиготы в оокинету, размеры оокинет, а также скорость формирования оокинеты in vitro. Накопление информации по особенностям развития гемоспоридий (Haemosporida) в стандартных условиях in vitro существенно расширяет сведения о межвидовой дивергенции, позволяет уточнить статус ряда видовых названий, а также предоставляет оригинальную информацию для филогенетических исследований.

В настоящей работе приводятся новые данные по особенностям развития in vitro некоторых гемопротейд птиц, гаметоциты которых похожи, а видовая дифференциация относительно сложна.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Материал собран на Биологической станции Зоологического института Академии наук России на Куршской косе Балтийского моря в мае 1992 г. Птиц отлавливали стационарными ловушками Рыбачинского типа и паутинными сетями, брали у них кровь и отсаживали в специальные садки. Мазки крови высушивали на воздухе, фиксировали метанолом, окрашивали азур-эозином по Романовскому и микроскопировали. Самцы соответствующих видов птиц, в крови которых регистрировалась чистая инвазия соответствующими видами гемопротейд, использовались в дальнейших исследованиях. Среди них 2 зяблика (*Fringilla coelebs* L.), зараженных *Haemoproteus dolniki* Valkiūnas et Iezhova, 1992; 1 зяблик, зараженный *H. fringillae* Labbé, 1894; 2 мухоловки-пеструшки [*Ficedula hypoleuca* (Pall.)], зараженные *H. balmorali* Peirce, 1984 (= *H. bacillaris* Valkiūnas et Iezhova, 1991); 1 луговой чекан [*Saxicola rubetra* (L.)], зараженный *H. balmorali*; 1 большая синица (*Parus major* L.), зараженная *H. majoris* (Laveran, 1902).

Таблица 1

Гаметогенез, формирование зиготы и оокинеты  
у трех видов гемопроteid (Haemoproteidae) in vitro  
Table 1. Gametogenesis, zygote and ookinete formation  
of three species of haemoproteids (Haemoproteidae) in vitro

Стадия развития	Время после экспозиции крови, содержащей зрелые гаметоциты, на воздухе													
	минуты							часы						
	1	3	5	10	15	30	45	1	1.5	3	6	12	24	48
Гаметоциты округляются, 2, 6	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲				
Гаметоциты покидают эритроциты, 3, 7	▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲				
Макрогаметы, 4	▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲				
Эксфлагелляция, 9	▲	● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	● ▲	● ▲	● ▲	▲				
Микрогаметы, 10	▲	● ▲	● ▲	● ▲	● ▲	● ▲	● ▲	● ▲	● ▲	▲				
Оплодотворение макрогамет, 11			■ ●	■ ●	■ ●	■ ●	▲	▲	▲	▲				
Зиготы, 12			■ ●	■ ●	■ ●	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲
Начальные стадии формирования оокинет, 13							■ ▲	■ ▲	■ ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲
Среднеформированные оокинеты, 14									■ ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲
Оокинеты с остаточным телом, 15											■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲	■ ● ▲
Оокинеты без остаточного тела, 16											■ ▲	■ ▲		● ▲

Примечание. Числа в графе „Стадия развития” соответствуют стадиям на рис. 1. Виды гемопротеид: ■ – *Haemoproteus majoris*, ● – *H. balmorali*, ▲ – *H. dolniki*, отсутствие знака – временные интервалы, в которых паразит на соответствующей стадии развития не обнаружен.

Интенсивность заражения птиц, которые были использованы в эксперименте по определению скорости гаметогенеза, формирования зиготы и оокинеты *in vitro* составляла 6 гаметоцитов на 1000 эритроцитов (95%-ный доверительный интервал  $2 \div 12$ ) у зяблика, зараженного *H. dolniki*; 21 ( $13 \div 30$ ) у мухоловки-пеструшки, зараженной *H. balmorali*; 12 ( $6 \div 20$ ) у большой синицы, зараженной *H. majoris*.

Кровь зараженных птиц брали из сердца, быстро помещали на часовое стекло и разводили 3.7%-ным раствором цитрата натрия в соотношении 1 часть раствора на 4 части крови. Через определенные промежутки времени после экспозиции крови на воздухе (табл. 1) готовили мазки. Их высушивали на воздухе, фиксировали метанолом, окрашивали азур-эозином по Романовскому и микроскопировали. Для предотвращения быстрого высыхания раствора с кровью часовое стекло помещали в чашку Петри, на дно которой клали смоченный в дистиллированной воде лист фильтровальной бумаги. Работа выполнена в условиях лаборатории, где температура воздуха поддерживалась на уровне 18—20 °С.

Настоящая работа — логическое продолжение ранее проведенного исследования по изучению развития гемопротейд птиц *in vitro* (Валькюнас, Ежова, 1993).

Коллекционные препараты со всеми описанными в данной статье стадиями развития гемопротейд хранятся в Институте экологии, г. Вильнюс (Литва).<sup>1</sup>

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Процесс гаметогенеза, оплодотворения, формирования зиготы и оокинеты у *Haemoproteus balmorali*, *H. dolniki*, *H. fringillae* и *H. majoris* *in vitro* проходит по единой схеме (рис. 1—3). Зрелые гаметоциты укорачиваются, округляются и покидают зараженный эритроцит. Каждый освободившийся из клетки-хозяина макрогаметоцит трансформируется в макрогамету, а микрогаметоцит — претерпевает эксфлагелляцию, в результате которой формируется крупное остаточное тело и змеевидные микрогаметы. Максимальное число последних равно 8. Сразу после появления микрогамет отмечается оплодотворение макрогамет и формируется зигота, которая через определенное время трансформируется в удлинненную оокинету. Развитие оокинеты включает стадию формирования остаточного тела, которое отделяется от оокинеты и содержит часть цитоплазмы и все пигментные гранулы или большую их часть. Эти превращения у всех 4 изученных видов *in vitro* проходят единообразно. Так как развитие *H. fringillae* *in vitro* во всех деталях соответствует изученному ранее (Валькюнас, Ежова, 1993), его описание далее не приводится. Детальный анализ изученного процесса выявил некоторые видовые отличительные особенности, которые условно можно разделить на 2 группы — морфологические признаки и особенности, связанные со временем формирования тех или иных стадий. Рассмотрим эти две группы признаков подробнее.

Видовые различия в морфологии некоторых стадий развития гемопротейд *in vitro*. Все изученные виды оказывают относительно сильное воздействие на зараженный эритроцит в момент освобождения из него. Наиболее сильное воздействие на эритро-

<sup>1</sup> Авторы глубоко признательны сотрудникам Биологической станции ЗИНа АН России за предоставленную прекрасную возможность проведения исследований на станции, помощь при сборе материала и консультации по орнитологии.

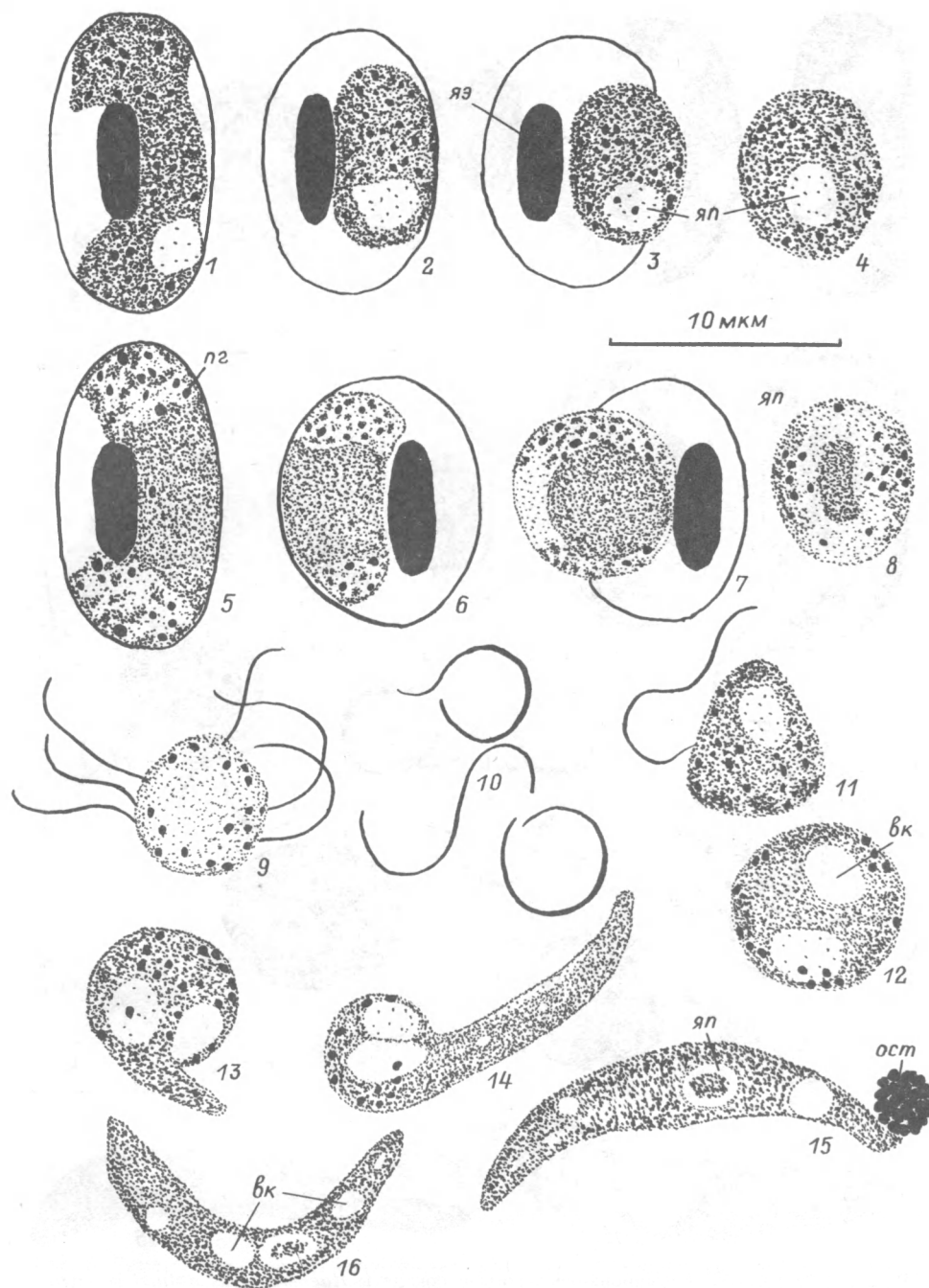


Рис. 1. Гаметогенез, формирование зиготы и оокинеты *Haemoproteus balmorali* in vitro.

На рис. 1—3: 1, 5 — зрелые макрогаметоцит (1) и микрогаметоцит (5) в периферической крови птиц до начала гаметогенеза; 2—3 — округляющийся макрогаметоцит; 4 — макрогамета; 6—7 — округляющийся микрогаметоцит; 8 — свободный микрогамета; 9 — эксфлагелляция; 10 — микрогаметы; 11 — оплодотворение макрогаметы; 12 — зигота; 13 — начальная стадия формирования оокинеты; 14 — среднесформированная оокинета; 15 — оокинета с остаточным телом; 16 — оокинета без остаточного тела; вк — вакуоль; ост — остаточное тело; пг — пигментные гранулы; яп — ядро паразита; яэ — ядро эритроцита.

Fig. 1. *Haemoproteus balmorali* gametogenesis, zygote and ookinete formation in vitro.

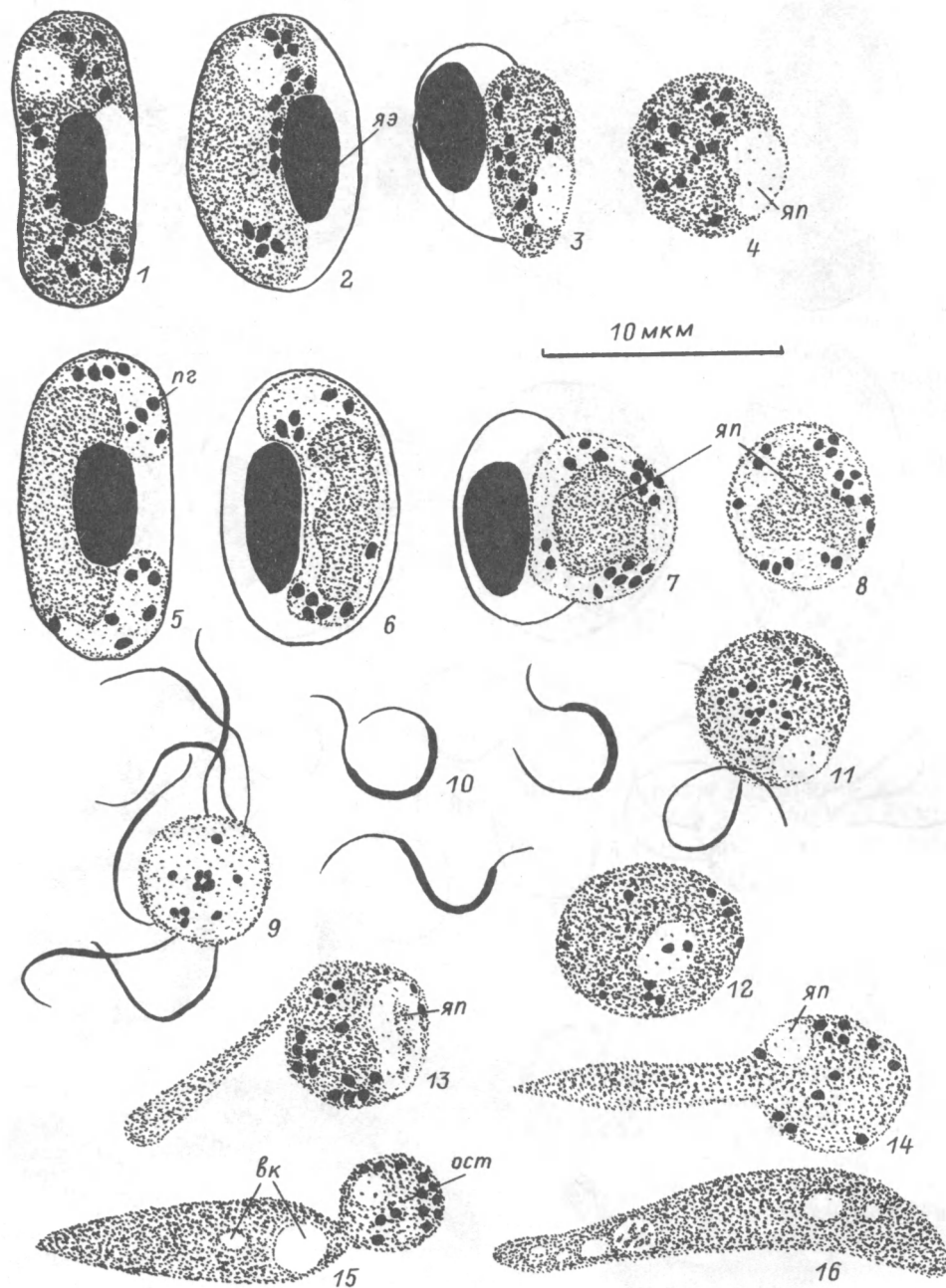


Рис. 2. Гамето́генез, формиро́вание зиготы и оокине́ты *Haemoproteus dolniki* in vitro.  
Обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 2. *Haemoproteus dolniki* gametogenesis, zygote and ookinete formation in vitro.

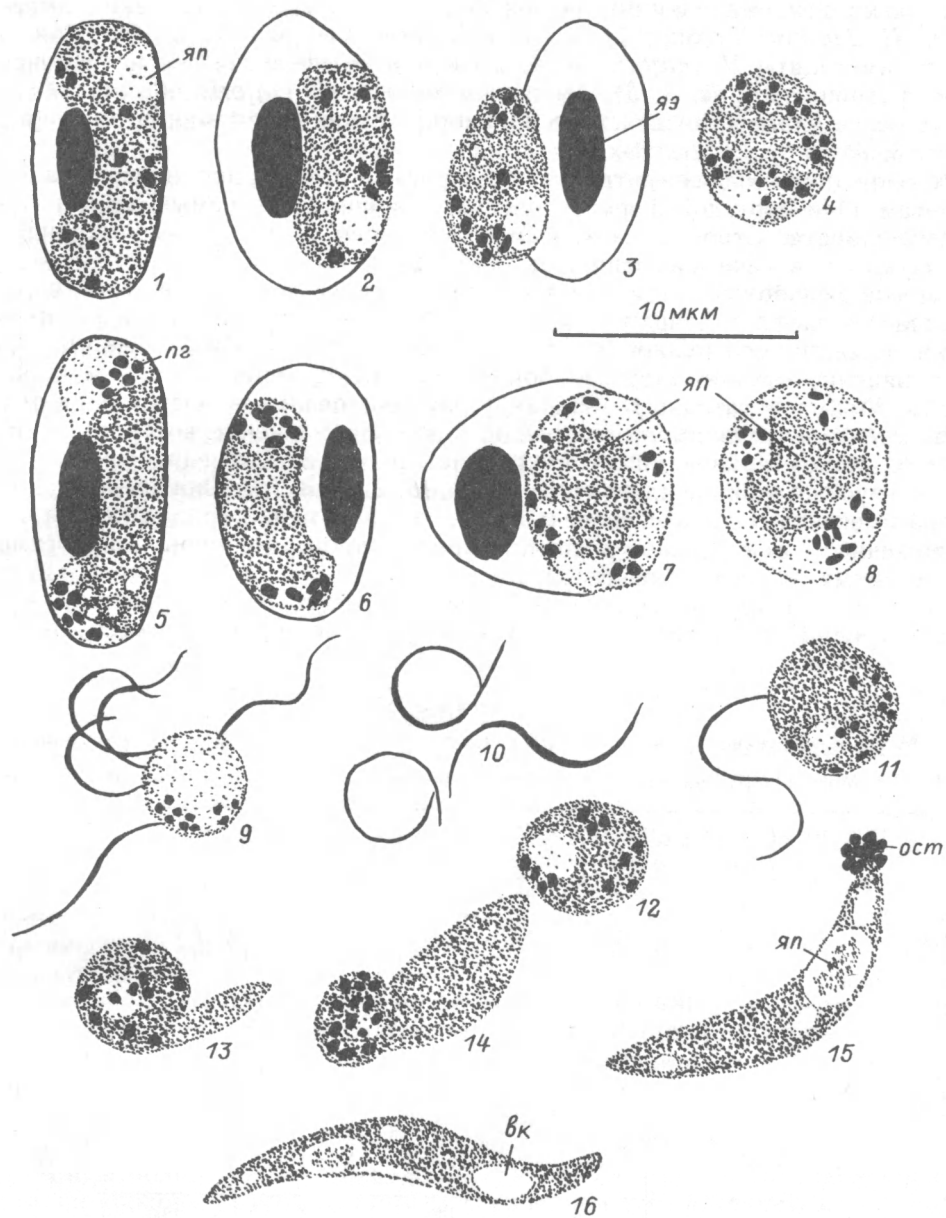


Рис. 3. Гаметогенез, формирование зиготы и оокинеты *Haemoproteus majoris* in vitro.  
Обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 3. *Haemoproteus majoris* gametogenesis, zygote and ookinete formation in vitro.

цит оказывают округлившиеся гаметоциты *H. dolniki*. При этом эритроцит уменьшается в размерах, а его ядро смещается на периферию (рис. 2, 3, 7). Несколько меньшее влияние на эритроцит и его ядро оказывают гаметоциты *H. balmorali* (рис. 1, 3, 7) и *H. majoris* (рис. 3, 3, 7). Причем макрогаметоциты *H. majoris* часто покидают морфологически не измененные эритроциты (рис. 3, 3). Микрогаметоциты *H. majoris* обычно оказывают более сильное воздействие на клетку-хозяина, чем макрогаметоциты (рис. 3, 7).

Освободившиеся из эритроцитов макрогаметоциты дают начало макрогаметам. Они округлой формы, содержат хорошо различимые ядро и гранулы пигмента. Строение макрогамет идентично у всех изученных видов, а размеры практически совпадают (табл. 2).

После освобождения из эритроцитов у микрогаметоцитов всех видов отмечается эксфлагелляция (рис. 1, 9; 2, 9; 3, 9). На этой стадии развития хорошо различимо крупное остаточное тело, от которого в разные стороны беспорядочно отходят жгутоподобные выросты, дающие начало микрогаметам. Форма остаточного тела округлая или овальная. Остаточное тело у *H. dolniki* иногда имеет шаровидный вырост, значение которого не известно. Максимальное число микрогамет равно 8. Строение микрогамет у всех изученных видов идентично (рис. 1, 10; 2, 10; 3, 10). Они представляют собой змеевидные тела с более (рис. 2, 10) или менее (рис. 1, 10; 3, 10) выраженным центрально расположенным ядром. Размеры микрогамет у изученных видов сходны (табл. 2).

Процесс оплодотворения макрогамет проходит единообразно у всех видов (рис. 1, 11; 2, 11; 3, 11). В это же время регистрируются первые

Т а б л и ц а 2

Морфометрические признаки гамет и оокинет 3 видов гемопротеусов (*Haemoproteus*)

Table 2. Morphometric parameters of gametes and ookinetes of three species of *Haemoproteus*

Признаки	<i>H. balmorali</i>				<i>H. dolniki</i>			
	<i>n</i>	lim	$\bar{X}$	$m_x$	<i>n</i>	lim	$\bar{X}$	$m_x$
Макрогамета	15				15			
длина		6.2—7.7	6.7	0.2		6—7.4	6.6	0.3
ширина		4.9—7.1	6	0.4		5.2—6.5	5.8	0.2
Микрогамета	15				15			
длина		10.6—14.3	12.9	0.6		11.1—14.2	13	0.5
ширина		0.4—0.6	0.5	0.04		0.4—0.6	0.5	0.03
Оокинета	15				4			
длина		12—18.6	14.7	1		13.7—18.5	15.1	3.2
ширина		2.2—2.9	2.6	0.1		3—3.9	3.4	0.5

Таблица 2 (продолжение)

Признаки	<i>H. majoris</i>			
	<i>n</i>	lim	$\bar{X}$	$m_x$
Макрогамета	15			
длина		5.7—7.7	6.7	0.3
ширина		5.2—6.1	5.6	0.1
Микрогамета	15			
длина		11.2—17.2	13.5	1.1
ширина		0.4—0.6	0.5	0.04
Оокинета	15			
длина		13.4—15.3	13.3	2.8
ширина		2.1—3.2	2.7	0.2

П р и м е ч а н и е. Все размеры даны в микрометрах.



зиготы. Зиготы у *H. dolniki* и *H. majoris* морфологически нельзя отличить от макрогамет (рис. 2, 11, 12; 3, 11, 12). Макрогаметы и зиготы у этих видов можно дифференцировать с некоторыми допущениями лишь по времени их появления. Зиготы *H. balmorali* (рис. 1, 12) содержат одну крупную вакуоль, которая отсутствует в макрогаметах (рис. 1, 4, 11).

Трансформация зиготы в оокинету у *H. balmorali*, *H. dolniki* и *H. majoris* проходит по одной схеме. Формирование оокинеты начинается с появления пальцевидного выроста, расположенного по касательной к основному телу оокинеты (рис. 1, 13; 2, 13; 3, 13). По мере роста оокинеты этот вырост увеличивается в размерах и дает начало переднему (апикальному) концу оокинеты (рис. 1, 14; 2, 14; 3, 14). На противоположном конце у средне-выросших оокинет отмечается скопление пигментных гранул. У сформировавшихся оокинет пигмент вместе с прилегающим участком цитоплазмы отделяется в виде остаточного тела (рис. 1, 15; 2, 15; 3, 15). Полностью сформированные оокинеты имеют удлинненно-червеобразную форму. Их размеры у изученных видов практически совпадают (табл. 2). Оокинеты содержат несколько четко различимых вакуолей (рис. 1, 16; 2, 16; 3, 16). Отметим, что вакуоли у *H. dolniki* и *H. majoris* появляются лишь на стадии среднесформированной оокинеты (рис. 2, 15; 3, 15), в то время как у *H. balmorali* они отмечены уже на стадии зиготы (рис. 1, 12).

Видовые различия в формировании некоторых стадий развития гемопротейд *in vitro* во времени. Данные о скорости гаметогенеза, формировании зигот и оокинет приведены в табл. 1.

Гаметогенез у всех видов проходит очень быстро и примерно с одинаковой скоростью. В интервале 1—5 мин после экспозиции крови, содержащей зрелые гаметоциты на воздухе, регистрируются макро- и микрогаметы. В это же время у *H. balmorali* и *H. majoris* отмечается оплодотворение и появляются первые зиготы. У *H. dolniki* процесс оплодотворения обнаружен лишь через 30 мин, несмотря на то что гаметы у этого вида формируются в течение 1 мин после экспозиции крови на воздухе (табл. 1). Отметим, однако, что интенсивность заражения птиц различными видами гемопротейд отличается. Наименьшая интенсивность инвазии зарегистрирована в крови зяблика, зараженного *H. dolniki*. В этой связи неизбежны различия в концентрации гамет в единице раствора *in vitro* у всех изученных видов, что препятствует проведению детальных межвидовых сравнений в скорости появления зигот.

Четкие различия выявлены в отношении времени трансформации округлой зиготы в удлинненную оокинету. Наиболее быстро развиваются оокинеты *H. majoris* (табл. 1). Начальные стадии формирования оокинет этого вида зарегистрированы через 45 мин, а полностью сформированные оокинеты через 6 ч после экспозиции крови на воздухе. Начальные стадии формирования оокинет у *H. balmorali* и *H. dolniki* отмечены в период с 3 до 6 ч, а полностью сформированные оокинеты через 48 ч. Таким образом, стадия «покоя» у зигот *H. majoris* короче, чем у *H. balmorali* и у *H. dolniki* примерно в 4 и 8 раз соответственно. Полностью сформированные оокинеты у *H. majoris* появляются примерно в 8 раз быстрее, чем у *H. balmorali* и *H. dolniki* (табл. 1).

Развитие *in vitro* *H. balmorali*, выделенного из крови мухоловки-пеструшки (сем. Muscicapidae) и лугового чекана (сем. Turdidae), проходит единообразно и совпадает во всех деталях (рис. 1, табл. 1).



Таблица 3

Основные отличительные признаки гамет, зигот и оокинет у *Haemoproteus balmorali*, *H. belopolskyi*, *H. dolniki*, *H. fringillae*, *H. majoris*, *H. pallidus*, *H. tartakovskyi* при развитии in vitro

Table 3. Main diagnostic signs of gametes, zygotes and ookinetes of *Haemoproteus balmorali*, *H. belopolskyi*, *H. dolniki*, *H. fringillae*, *H. majoris*, *H. pallidus*, *H. tartakovskyi* during the development in vitro

- |         |   |                        |
|---------|---|------------------------|
| 1 (7).  | Средняя длина микрогамет более 10 мкм.  |                        |
| 2 (8).  | Зиготы не содержат крупных вакуолей.  |                        |
| 3 (11). | Средняя длина сформированных оокинет менее 17 мкм.                                    |                        |
| 4 (12). | Оокинет с остаточным телом при температуре 18—20 °С формируются менее чем через 12 ч. |                        |
| 5 (6).  | Средняя ширина сформированных оокинет более 2.5 мкм                                   | <i>H. majoris</i>      |
| 6 (5).  | Средняя ширина сформированных оокинет менее 2.5 мкм                                   | <i>H. belopolskyi</i>  |
| 7 (1).  | Средняя длина микрогамет менее 10 мкм   | <i>H. pallidus</i>     |
| 8 (2).  | Зигота содержит крупную вакуоль.  |                        |
| 9 (10). | Пальцевидный вырост на начальной стадии развития оокинеты имеется                     | <i>H. balmorali</i>    |
| 10 (9). | Пальцевидный вырост на начальной стадии развития оокинеты отсутствует                 | <i>H. fringillae</i>   |
| 11 (3). | Средняя длина сформированных оокинет более 17 мкм                                     | <i>H. tartakovskyi</i> |
| 12 (4). | Оокинет с остаточным телом при температуре 18—20 °С формируются более чем через 12 ч  | <i>H. dolniki</i>      |

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Гаметогенез, оплодотворение, формирование зиготы и оокинет у гемопротеид птиц в стандартных условиях in vitro изучены у *Haemoproteus fringillae*, *H. belopolskyi* Valkiūnas, 1989, *H. tartakovskyi* Valkiūnas, 1986, *H. pallidus* Valkiūnas et Iezhova, 1991 (Валькюнас, Ежова, 1993). При этом определены признаки, которые могут быть использованы для расширения характеристики видов. В настоящей работе это исследование дополнено видами гемопротеид, гаметоциты которых похожи, а видовая дифференциация сложна и требует определенных навыков. Среди этих видов — *H. balmorali*, *H. dolniki*, *H. majoris*. Кроме того, повторно исследован процесс развития in vitro *H. fringillae* — одного из наиболее часто отмечаемого у воробьиных птиц вида гемопротеид, определение которого представляет сложности даже для специалистов. Название *H. fringillae* многократно использовалось для обозначения многих паразитов, выявленных у воробьиных (Passeriformes) птиц различных семейств (Bishop, Bennett, 1992). Опубликованное недавно переписание гаметоцитов *H. fringillae* весьма схематично (Burry-Caines, Bennett, 1992) и проблему определения вида не снимает. Поиск четких видовых характеристик *H. fringillae* представляет теоретический интерес, так как таковые дают возможность определить место этого широко распространенного паразита в системе родственных видов, паразитирующих у воробьиных птиц, и на этой основе решить ряд таксономических проблем.

Детальные иллюстрации и переписание гаметоцитов *H. fringillae* из крови типового позвоночного хозяина (зяблик) опубликованы ранее (Валькюнас, Ежова, 1992а, 1992б). Среди основных отличительных особенностей гаметоцитов *H. fringillae* следует прежде всего отметить различия в строении макро- и микрогаметоцитов, а также наличие выросших макрогаметоцитов, не заполняющих полюса зараженных эритроцитов. Эти признаки, по нашему мнению, весьма характерны для *H. fringillae* и отличают вид от таких похожих паразитов, как *H. dolniki* и *H. majoris*. Кровь зябликов, содержащая типичные гаметоциты *H. fringillae*, использовалась для изучения развития паразита in vitro. Полученные новые данные по гамето-

генезу, формированию зиготы и оокинеты во всех деталях совпали с результатами нашего более раннего исследования (Валькюнас, Ежова, 1993). Среди хороших признаков, характеризующих *H. fringillae*, следует прежде всего отметить наличие в зиготах одной крупной вакуоли и грушевидную (кеглевидную) форму среднесформированных оокинет, которые развиваются без образования пальцевидного выроста.

*H. dolniki* и *H. majoris* похожи на *H. fringillae* по строению гаметоцитов. Различия между видами сводятся прежде всего к деталям взаимоотношений пелликулы выросших гаметоцитов с «оболочкой» зараженных эритроцитов (Валькюнас, Ежова, 1992а, 1992б). Эти признаки зачастую игнорируются при определении видов (Bennett, Peirce, 1988). Изучение развития паразитов *in vitro* позволяет безошибочно отличить *H. dolniki* и *H. majoris* от *H. fringillae* по наличию в зиготе последнего вида одной крупной четко выраженной вакуоли, которая в зиготах *H. dolniki* и *H. majoris* отсутствует. Эти данные, с одной стороны, наглядно свидетельствуют об информативности использования особенностей развития гемопротейд *in vitro* для расширения диагнозов видов, а с другой, — подтверждают необходимость более тщательного анализа и использования деталей в строении гаметоцитов при описании видов.

Важно отметить, что трансформация *in vitro* гаметоцитов *H. balmorali*, развивающихся у различных позвоночных хозяев (мухоловка-пеструшка и луговой чекан), проходит по единой схеме и совпадает во всех деталях. Среди основных отличительных признаков этого вида выделим присутствие в зиготе одной крупной вакуоли (рис. 1, 12), а также наличие пальцевидного выроста на начальных этапах трансформации зиготы в оокинету (рис. 1, 13). По сочетанию этих двух признаков *H. balmorali* можно отличить от всех видов гемопротейд птиц, развитие которых *in vitro* в настоящее время изучено. Морфология гаметоцитов *H. balmorali* у мухоловковых (сем. Muscicapidae) и дроздовых (сем. Turdidae) птиц идентична. Пирс и Беннетт (Peirce, Bennett, 1993) после тщательного анализа строения гаметоцитов пришли к заключению, что *H. balmorali* может паразитировать у дроздовых птиц, что ставилось под сомнение ранее (Bennett e. a., 1991). Полученные нами сведения о развитии *in vitro* *H. balmorali*, выделенного из крови мухоловковых и дроздовых птиц, подтверждают эту точку зрения.

Проведенные исследования дают возможность выделить наиболее ценные признаки, отмеченные при развитии гемопротейд *in vitro*, которые могут быть использованы при определении видов. Среди них следует прежде всего упомянуть длину микрогамет, строение зигот, морфологические особенности трансформации зиготы в оокинету, размеры оокинет, а также скорость формирования оокинеты. Рассмотрим их подробнее на основе данных, изложенных в настоящей работе, а также некоторых ранее опубликованных материалов (Baker, 1963, 1966; Валькюнас, Ежова, 1993).

Длина микрогамет у большинства изученных видов гемопротейд птиц варьирует в пределах 10—18 мкм. Самые короткие микрогаметы (в среднем менее 10 мкм) характерны для *H. pallidus*, а самые длинные (в среднем более 20 мкм) выявлены у *H. palumbis* Baker, 1966.

Размеры макрогамет у всех изученных видов практически совпадают. Вместе с тем размеры гаметоцитов у многих видов существенно отличаются. Эти данные дают основание предполагать, что на стадии предшествующей оплодотворению имеет место выравнивание размеров макрогамет.

В зиготах *H. balmorali* и *H. fringillae* присутствует одна крупная вакуоль, которую не удавалось наблюдать в зиготах других видов. Наличие вакуоли в зиготах — хороший диагностический признак *H. balmorali* и *H. fringillae*.

По морфологии паразитов на начальной стадии трансформации зиготы

в оокинету изученные виды можно разделить на 3 основные группы. В первую наиболее большую группу входят *H. balmorali*, *H. belopolskyi*, *H. dolniki*, *H. majoris*, *H. tartakovskyi*. Формирование оокинеты у этих паразитов начинается с появления пальцевидного выроста. Во вторую группу входит *H. fringillae*. У этого вида в средней части зиготы появляется короткий тупой вырост, который вытягивается и придает формирующейся оокинете грушевидную (кеглевидную) форму. В третью группу входит *H. pallidus*. Формирование оокинеты *H. pallidus* идет без образования каких-либо четко выраженных выростов. Трансформирующаяся оокинета этого паразита приобретает треугольную форму и плавно вытягивается.

По скорости формирования оокинеты *in vitro* изученные виды также можно условно разделить на 3 группы. Наиболее быстро (в течение 1 ч) формируются оокинеты *H. pallidus*, а наиболее медленно (в течение 24—48 ч) — оокинеты *H. dolniki* и *H. tartakovskyi*. Промежуточное положение между этими двумя группами видов занимают *H. balmorali*, *H. belopolskyi*, *H. fringillae*, *H. majoris*. Оокинеты с остаточным телом у видов этой группы формируются примерно в течение 6 ч.

Комбинация перечисленных признаков у различных видов гемопротеид довольно разнообразна и информативна, что дает возможность проводить видовую дифференциацию без знания морфологии гаметоцитов в периферической крови. Этот вывод проиллюстрирован в табл. 3. Она составлена в виде определительного ключа, в котором использованы главные отличительные признаки рассматриваемых видов. Изложенные в табл. 3 данные наглядно демонстрируют возможность составления определителя видов гемопротеид с привлечением данных по развитию паразитов *in vitro*, что ранее не было использовано. Изучение гаметогенеза, формирования зиготы и оокинеты в стандартных условиях *in vitro* расширяет сведения о дивергенции видов и может быть использовано в систематике гемоспоридий.

#### Список литературы

- Валькюнас Г. А., Ежова Т. А. Новые виды гемопротеид (Haemosporidia, Haemoproteidae) воробьиных птиц // Зоол. журн. 1992а. Т. 71, вып. 1. С. 5—15.
- Валькюнас Г. А., Ежова Т. А. Паразитические простейшие крови птиц СССР. 8. Гемопротеиды воробьиных // Ekologija. 1992б. № 1. Р. 59—83.
- Валькюнас Г. А., Ежова Т. А. Гаметогенез, формирование зиготы и оокинеты у некоторых видов гемопротеид (Haemosporidia: Haemoproteidae) птиц *in vitro* // Паразитология. 1993. Т. 27, вып. 1. С. 19—35.
- Baker J. R. The transmission of Haemoproteus sp. of English Woodpigeons by Ornithomyia avicularia // J. Protozool. 1963. Vol. 10, N 4. P. 461—465.
- Baker J. R. Haemoproteus palumbis sp. nov. (Sporozoa, Haemosporina) of the English Woodpigeon Columba p. palumbus // J. Protozool. 1966. Vol. 13, N 3. P. 515—519.
- Bennett G. F., Bishop M. A., Peirce M. A. The species and distribution of the haemoproteids of the avian family Muscicapidae sensu latu (Passeriformes) // J. Nat. Hist. 1991. Vol. 25. P. 23—43.
- Bennett G. F., Peirce M. A. Morphological form in the avian Haemoproteidae and an annotated checklist of the genus Haemoproteus Kruse, 1890 // J. Nat. Hist. 1988. Vol. 22. P. 1683—1696.
- Bishop M. A., Bennett G. F. Host-Parasite Catalogue of the Avian Haematozoa, Supplement 1 and Bibliography of the Avian Blood — Inhabiting Haematozoa, Supplement 2. St. John's, 1992. 244 p.
- Burry-Caines J. R., Bennett G. F. The Haemoproteidae (Apicomplexa: Haemosporina) of the avian families Fringillidae and Emberizidae s. l. // Can. J. Zool. 1992. Vol. 70, N 6. P. 1149—1160.
- Peirce M. A., Bennett G. F. Validation and synonymy of some haemoproteids of the avian family Muscicapidae // J. Nat. Hist. 1993. Vol. 27. P. 505—506.

Институт экологии, Вильнюс, Литва

Поступила 10.07.1993

PECULIARITIES OF THE GAMETOGENESIS, ZYGOTE AND OOKINETE  
OF SOME SPECIES OF BIRD HAEMOPROTEIDS (HAEMOSPORIDIA:  
HAEMOPROTEIDAE) FORMATION IN VITRO

G. A. Valkiūnas, T. A. Iezhova

*Key words:* *Haemoproteus*, gametogenesis, zygote, ookinete, birds.

S U M M A R Y

Observations were made through examination of thin blood films which were prepared at appropriate intervals from citrated fresh blood of infected birds. The comparative description of gametogenesis, zygote and ookinete formation of *Haemoproteus balmorali*, *H. dolniki*, *H. majoris* under the light microscope is given. The most informative signs, which can be used for haemoproteid systematics, were determined and compared with such signs of *H. belopolskyi*, *H. fringillae*, *H. pallidus*, *H. tartakovskyi* (Валькюнас, Ежова, 1993). Among them the microgamete length, zygote structure, morphological peculiarities of developing ookinete as well as the rate of ookinete formation can be pointed out first of all.

*H. pallidus* microgametes are nearly twice shorter than the microgametes of other species. A large clear vacuole is formed in zygote of *H. balmorali* and *H. fringillae* only. The majority of diagnostic features have the developing ookinetes. Three types of initial stages in ookinete formation were distinguished. The first type is characteristic of *Haemoproteus balmorali*, *H. belopolskyi*, *H. dolniki*, *H. majoris* and *H. tartakovskyi*. Ookinete formation in these species starts with the appearance of thin long digital growth. In the course of development this growth increases in size and gives the beginning to the apical end of ookinete. The second type is characteristic of *H. fringillae*. In this species a short blunt growth appears in the middle part of the parasite. The growth stretches itself and the forming ookinete is put into the shape of a pear. The third type is observed in *H. pallidus*. Ookinete formation in *H. pallidus* occurs without the development of any expressed growths. In the process of transformation the ookinete of this species acquires a triangle form. One side of the «triangle» accumulates some pigment and the opposite angle becomes prolonged, thus giving the beginning of ookinete. There were clear differences between haemoproteid species on the rate of ookinete formation. The ookinetes of *H. balmorali*, *H. belopolskyi*, *H. fringillae*, *H. majoris* are formed for about 12 times more slowly than *H. pallidus* ones, and for about 6 times more rapidly than *H. dolniki* and *H. tartakovskyi* ones.

The peculiarities of gametogenesis, zygote and ookinete formation under the stable conditions in vitro can be used as usefull additional sings for determination of haemoproteid species.